

“Research article: 1407”

Analysis of authorized and unauthorized tissue in hamburger products with general and specific staining

Alipour Nashli, P.¹, Raji, A.R.^{2*}, Khanzadi, S.³, Nabipour, A.⁴

1. DVM Graduate, Faculty of Veterinary Medicine, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran

2. Associate Professor, Department of Basic Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran

3. Associate Professor, Department of Food and Aquatic Health, Faculty of Veterinary Medicine, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad Iran

4. Professor, Department of Basic Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran

*Corresponding author: rajireza@um.ac.ir

(Received: 2023/7/31 Accepted: 2023/12/31)

Abstract

Processed foods derived from animals, such as hamburgers, play a significant role in diets worldwide. According to the National Standard, hematoxylin-eosin staining is utilized to identify unauthorized tissues within meat products. This study aimed to compare the effectiveness of specific staining techniques against general staining methods in detecting such unauthorized tissues. Twenty hamburger samples were collected from fourteen different food production facilities, with three 5 mm tissue samples extracted from each product and placed in a 10% buffered formalin solution. Subsequently, the process of tissue preparation, creation of paraffin blocks, and sectioning was carried out, followed by staining the prepared sections with Hematoxylin & Eosin, Verhoef-Van Gieson, Mason's trichrome, and PAS-Alcian blue stains for examination under a light microscope. A total of 240 tissue slides were prepared for analysis. Identified non-unauthorized tissues included salivary glands, while authorized tissues included joint cartilage, bone, skeletal muscle, blood vessels, connective tissue, fat, soy, and plant tissue. The findings indicate that employing specific staining techniques enables more accurate, reliable, and faster identification of tissues in hamburger products. The results suggest that integrating special staining with general staining improves detection capability. The images generated from this research serve as a useful reference for identifying unauthorized tissues in hamburgers.

Conflict of interest: None declared.

Keywords: Histology, Hamburger, Authorized and unauthorized tissue

«مقاله پژوهشی: ۱۴۰۷»

بررسی بافت‌های مجاز و غیرمجاز در محصولات همبرگر با رنگ‌آمیزی‌های عمومی و اختصاصی

بررسی بافت‌های مجاز و غیرمجاز در همبرگر

پریسا علی‌پورنشلی^۱، احمدرضا راجی^{۲*}، سعید خانزادی^۳، ابوالقاسم نبی‌پور^۴

۱- فارغ‌التحصیل دکترای عمومی دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران

۲- دانشیار گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه فردوسی، مشهد، ایران

۳- دانشیار گروه بهداشت مواد غذایی و آبزیان، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران

۴- استاد گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران

*نویسنده مسئول مکاتبات: rajireza@um.ac.ir

(دریافت مقاله: ۱۴۰۲/۵/۹ پذیرش نهایی: ۱۴۰۲/۱۰/۱۰)

چکیده

پروتئین یک جزء ضروری نیاز غذایی انسان است. غذاهای فرآوری شده با منشاء دامی نظیر همبرگر نقش مهمی در رژیم غذایی مردم جهان دارند. برای تشخیص بافت‌های غیرمجاز در محصولات گوشتی طبق استاندارد ملی از رنگ‌آمیزی همتوکسیلین و اتوزین استفاده می‌شود. هدف از این تحقیق مقایسه رنگ‌آمیزی اختصاصی و عمومی در تشخیص بافت‌های غیرمجاز بود. در ابتدا تعداد ۲۰ نمونه همبرگر از ۱۴ کارخانه فرآورده‌های غذایی تهیه گردید از هر محصول همبرگر سه نمونه بافتی به ابعاد ۵ میلی‌متر تهیه و در محلول بافر فرمالین ۱۰ درصد قرار داده شد. سپس مراحل آماده کردن، تهیه بلوک پارافینه و برش انجام و مقاطع تهیه شده با رنگ‌های همتوکسیلین و اتوزین، ورهوف-ونگیسون، ماسون تری کروم و پاس-آلسین بلو رنگ‌آمیزی شده و با میکروسکوپ نوری مورد مطالعه قرار گرفتند. در مجموع ۲۴۰ اسلاید بافتی تهیه گردید. در این مطالعه بافت‌های غیرمجاز شناسایی شده شامل گوشت ناحیه سر و غدد بزاقی و بافت‌های مجاز شامل غضروف مفصلی، استخوان، عضله اسکلتی، عروق خونی، بافت‌های همبندی، چربی، سویا و بافت‌های گیاهی بودند. نتایج نشان داد با انجام رنگ‌آمیزی‌های اختصاصی می‌توان تشخیص دقیق‌تر، مطمئن‌تر و سریع‌تری در محصولات همبرگر داشت. نتایج نشان داد که بهتراست رنگ‌آمیزی‌های اختصاصی به رنگ‌آمیزی‌های عمومی اضافه شود. تصاویر این تحقیق می‌تواند به عنوان مرجعی در تشخیص بافت‌های مجاز و غیرمجاز در همبرگر مورد استفاده قرارگیرد.

واژه‌های کلیدی: بافت‌شناسی، همبرگر، بافت‌های مجاز و غیرمجاز

مقدمه

فرآورده‌های گوشتی متنوعی است. بافت‌های حیوانی غیرمجاز در این استاندارد به این صورت اعلام شده‌اند: اندام‌های سینه‌ای و شکمی دام و طیور مانند: قلب، کبد، ریه، طحال، سیرابی، شیردان، روده‌ها، مری، چینه‌دان، سنگدان و کلواک. اندام‌های ادراری و تناسلی مانند: کلیه، مثانه و پستان. بافت‌های عصبی و لنفاوی مانند: نخاع، مغز، گره‌های لنفاوی، لوزه، تیموس، طحال، بورس فابرسیوس، بافت‌های غده‌ای مانند: غدد بزاقی، زبان، نای، پوست، چربی صفاقی، دنبه و بافت‌های استخوانی (ISIRI, 6103/2018).

محققان در مطالعه‌ای بر روی نمونه‌های کالباس با رنگ‌آمیزی اورنج جی و آلانین بلو توانستند رشته‌های کلاژن را به خوبی تفریق و میزان آن را در نمونه‌های کالباس مطالعه کنند (Hultsch and Kruger, 1977) گروهی دیگر از محققین هم چنین توانستند با انجام رنگ‌آمیزی ماسون تری کروم بافت‌های همبندی و عضلات به کاررفته در کالباس را از همدیگر تشخیص دهند (Khaniki and Rokni, 2004).

در مطالعه‌ای دیگر بر روی تعداد ۸۰ نمونه سوسیس و کالباس عرضه‌شده در تبریز و خوی با مقادیر گوشت کمتر از ۵۵ درصد و بیش از ۵۵ درصد (در طی زمستان ۱۳۹۳ و بهار ۱۳۹۴) مشاهده گردید که در ۸۷/۵ درصد کل نمونه‌ها بافت غضروف با درصد بالا مشاهده شد. همچنین بافت‌هایی نظیر انواع غدد، بافت همبندی، چربی، پوست، غضروف، استخوان، نای، ریه، مثانه، تخم انگل و روده مشاهده گردید (Payamei et al., 2021).

با توجه به اینکه تعدادی از ساختارهای بافتی در رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین وائوزین دارای رنگ پذیری

سال‌هاست که انسان به اهمیت بهداشت در زندگی خود و محیط زیست پیرامونش پی برده است. گرچه مواد غذایی برای سلامتی لازم و ضروری است، آلودگی‌ها و فساد آن‌ها برای سلامتی انسان‌ها خطرناک است. بهداشت مواد غذایی عبارت است از کلیه‌ی موازینی که رعایت آن‌ها در مراحل گوناگون از ماده اولیه، تولید، فرآوری، نگهداری، توزیع و عرضه مواد غذایی موجب فراهم آوردن غذای سالم و با کیفیت بالای بهداشتی و خوراکی خواهد شد (ISIRI, 6103/2018).

با توجه به هزینه‌های بالای تولید احتمال بکارگیری بافت‌های غیرمجاز در فرآورده‌های غذایی منجمد مانند همبرگر همیشه وجود دارد. در روش انجام آزمون استاندارد ملی تأکید گردیده است که تنها از رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین وائوزین استفاده شود (ISIRI, 6103/2018).

با توجه به اینکه گوشت دام‌ها در مراحل تهیه دچار تغییراتی فیزیکی می‌گردد تشخیص بافت‌های مجاز از غیرمجاز به روش بافت‌شناسی با رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین وائوزین گاهی با شک و تردید همراه می‌باشد (Khaniki and Rokni, 2004)، لذا این تحقیق با بکارگیری رنگ‌آمیزی‌های اختصاصی به همراه عمومی امکان تشخیص بافت‌های غیرمجاز از مجاز را افزایش داده و باعث ارتقاء کیفی این آزمون گردیده است.

تشخیص بافت‌های غیرمجاز بوسیله آزمون استاندارد ملی شماره ۶۱۰۳ بررسی می‌شود با توجه به متن استاندارد مربوطه، کارایی این آزمون در ارتباط با

تعداد ۶۰ عدد تهیه گردید. برش بلوک‌ها به وسیله دستگاه میکروتوم نیمه اتوماتیک مدل لایکا به ضخامت ۶ میکرومتر تهیه شد، به این شکل که از هر نمونه تعداد ۴ مقطع پشت سرهم تهیه شد در مجموع تعداد ۲۴۰ مقطع بافتی تهیه و با رنگ‌آمیزی‌های هماتوکسیلین وائوزین، ماسون تری کروم، ورهوف-ون گیسون و پاس - آلسین بلو رنگ‌آمیزی گردید (Pousty, 1989).

علت انتخاب این رنگ‌آمیزی‌ها این است که در رنگ‌آمیزی ماسون تری کروم رشته‌های کلاژن سبزرنگ از عضلات قرمز رنگ کاملاً مشخص می‌شوند، در رنگ‌آمیزی ورهوف رشته‌های الاستیک سیاه رنگ شده، ساختارهای غده ای در رنگ‌آمیزی پاس ارغوانی رنگ و در آلسین بلو، آبی رنگ مشاهده شدند.

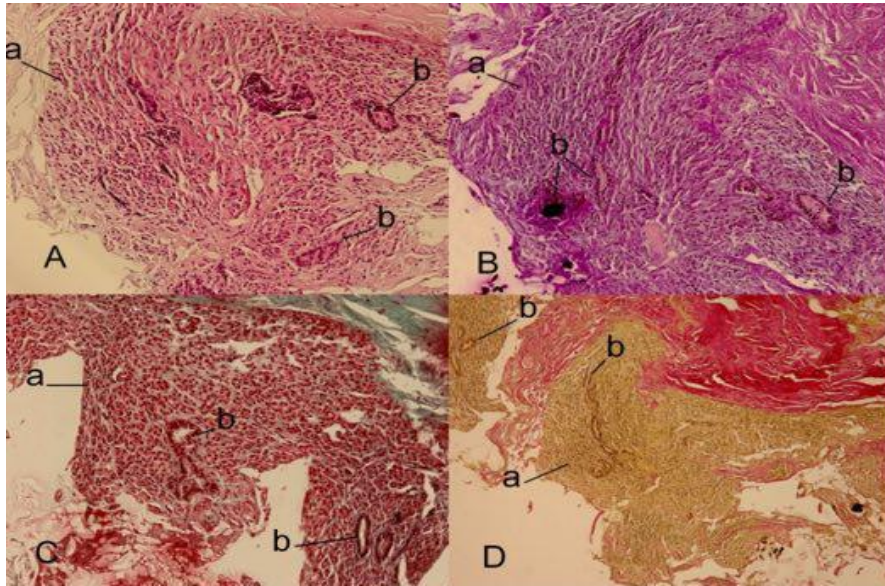
یافته‌ها

بافت‌های قابل تشخیص در اسلایدهای تهیه شده عبارتند از: غدد بزاقی ناحیه سر، غضروف مفصلی، استخوان، عضلات اسکلتی، بافت همبندی، بافت چربی، عروق خونی، اعصاب، بافت‌های گیاهی منجمله سویا و سایر مواد افزودنی که به ترتیب در اشکال ۱ تا ۱۰ مشخص شده اند.

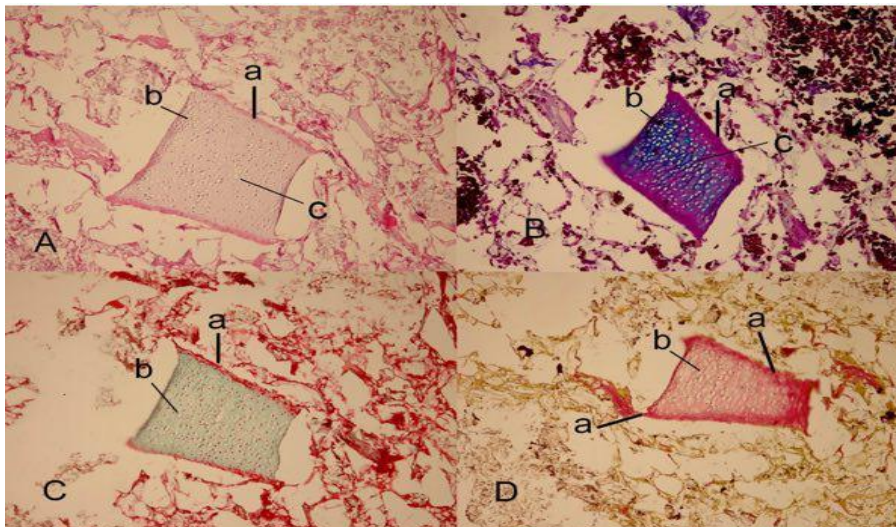
مشابهی می‌باشند (عضله، بافت همبند، غضروف و استخوان) بر آن شدیم که با بکارگیری رنگ‌آمیزی اختصاصی این ساختارها را در همبرگر به صورت کیفی تفریق و شناسایی کنیم. هدف از این تحقیق تشخیص بافت‌های مجاز و غیر مجاز در همبرگر به صورت مقایسه ای با رنگ‌آمیزی عمومی اختصاصی است.

مواد و روش‌ها

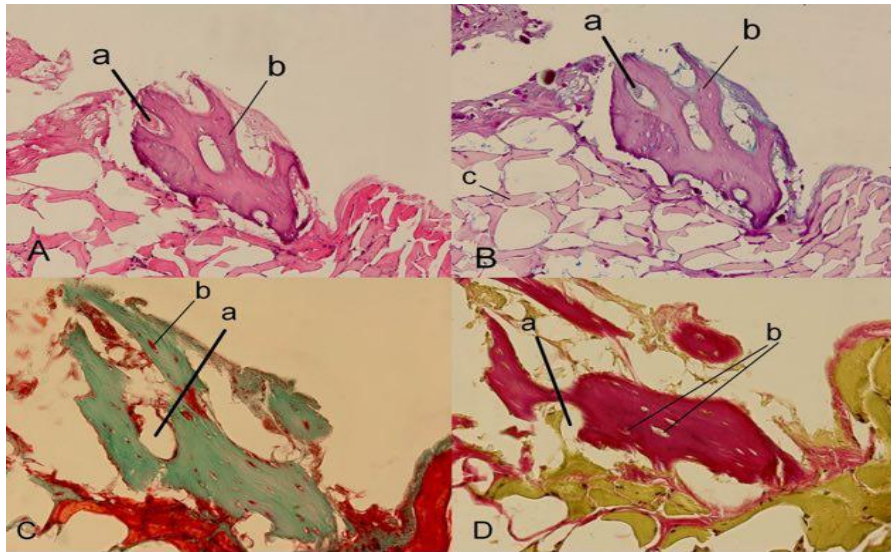
در ابتدا تعداد ۲۰ نمونه همبرگر از محصولات کارخانجات فرآورده‌ای غذایی از شهر مشهد تهیه و به آزمایشگاه بافت‌شناسی دانشکده دامپزشکی دانشگاه فردوسی مشهد منتقل گردید. مشخصات تمام نمونه‌های همبرگر در دفتر مخصوص ثبت و برای هر محصول یک کد در نظر گرفته شد. سپس از نمونه‌های گرد همبرگر در ساعت‌های ۲، ۶، ۱۰ با فاصله یک سانتی‌متر نمونه‌ای از لبه همبرگر به ابعاد ۵×۵ میلی‌متر جدا و در مجموع ۶۰ نمونه تهیه گردید. نمونه‌ها برای ثابت شدن به مدت ۲۴ ساعت در محلول بافر فرمالین ۱۰ درصد قرار داده شدند، سپس مراحل آماده سازی بافت شامل مراحل: آبگیری با الکل، شفاف کردن با گزلیل و آغشتگی با پارافین در دستگاه آماده‌کننده بافت (Tissue Processor) انجام و نمونه‌ها در قالب‌های لوکهارت با پارافین مذاب قالب‌گیری و بلوک‌های پارافینی به



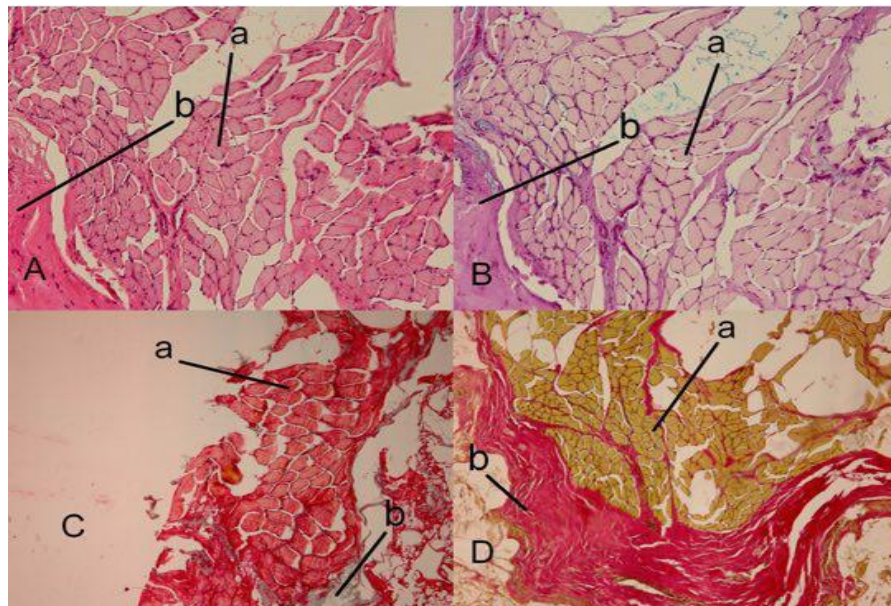
شکل ۱: مقطع بافتی غده بزاقی A: هماتوکسیلین وائوزین، B: پاس - آلسین بلو، C: ماسون تری کروم، D: ورهوف-ون گیسون، a: بافت پارانشیم غده بزاقی، b: مجرای ترشحی، X ۱۰۰



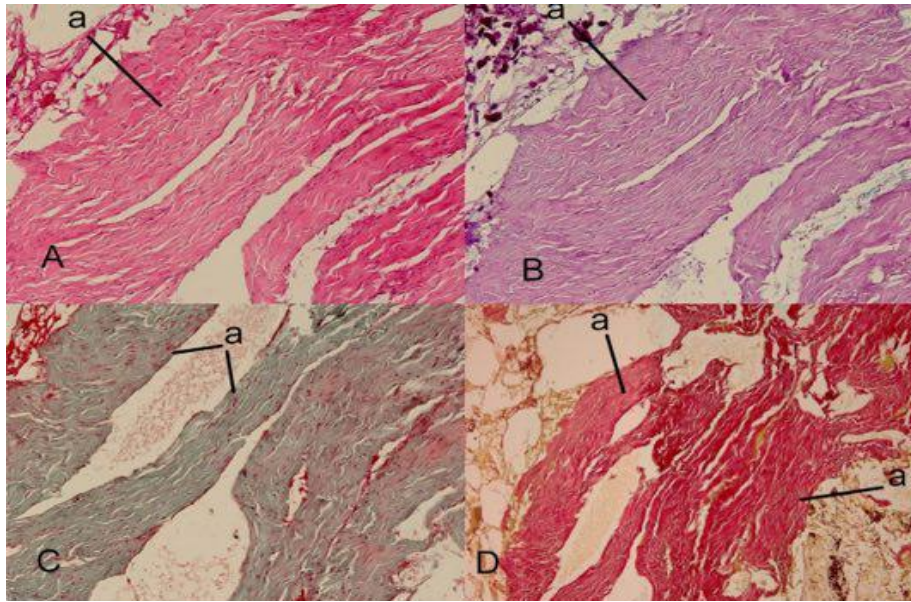
شکل ۲: مقطع بافتی غضروف مفصلی A: هماتوکسیلین وائوزین، B: پاس - آلسین بلو، C: ماسون تری کروم، D: ورهوف-ون گیسون، a: بخش بیرونی غضروف، b: کندروسیت، c: لاکونا، X ۱۰۰



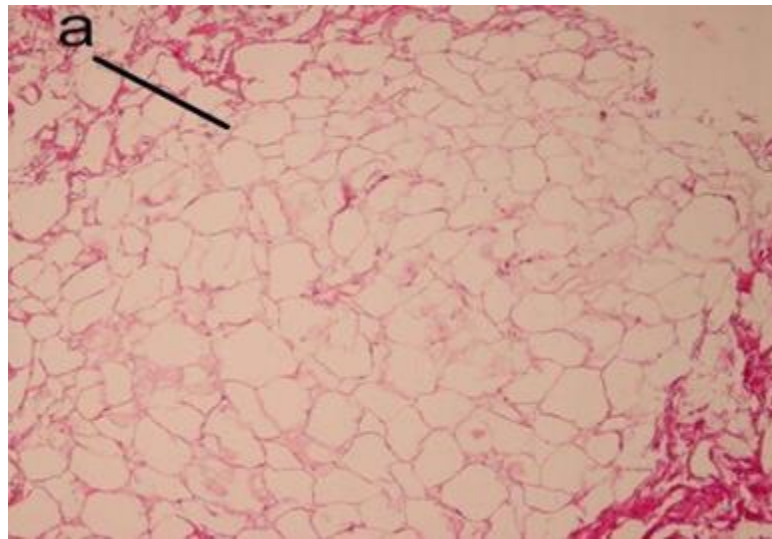
شکل ۳: مقطع بافت استخوان A: هماتوکسیلین وائوزین، B: پاس - آلسین بلو، C: ماسون تری کروم، D: ورهوف-ون گیسون، a: سیستم هاورس، b: استئوسیت، c: لاکونا، X100



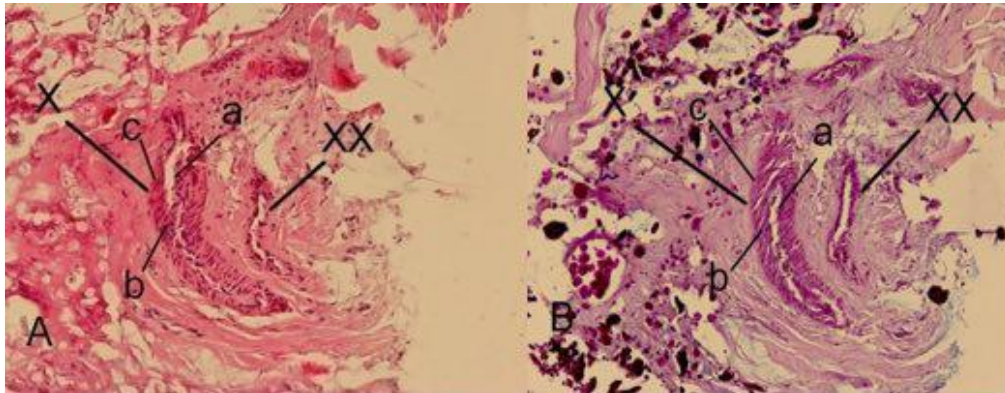
شکل ۴: مقطع بافتی عضله اسکلتی. A: هماتوکسیلین وائوزین، B: پاس - آلسین بلو، C: ماسون تری کروم، D: ورهوف-ون گیسون، a: مقطع فیبر عضله اسکلتی، b: بافت همبند، X100



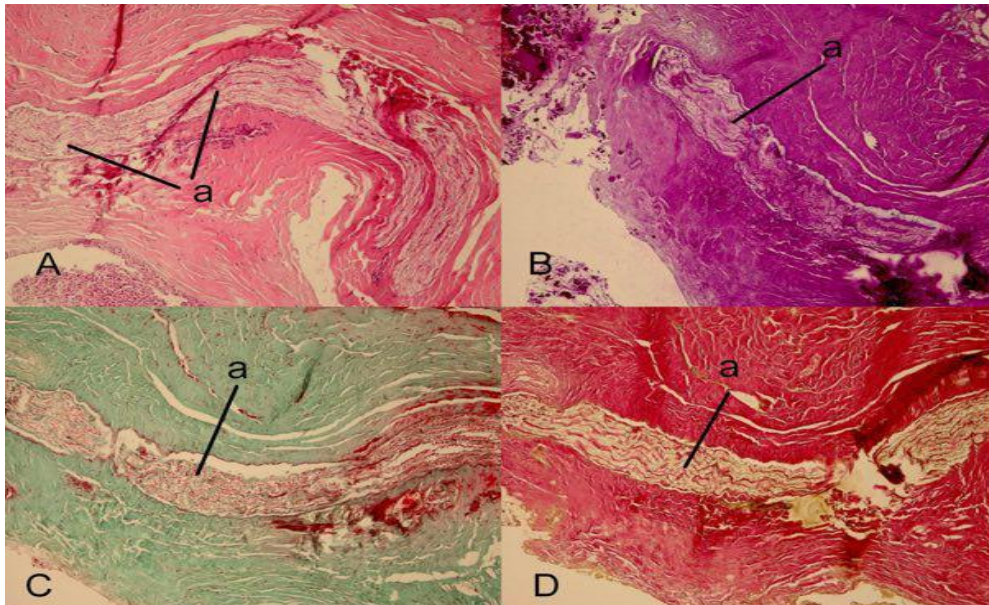
شکل ۵: مقطع بافت همبندی. B: پاس - آلسین بلو، C: ماسون تری کروم، D: ورهوف-ون گیسون، a: رشته کلاژن، A: هماتوکسیلین و ائوزین، X1۰۰



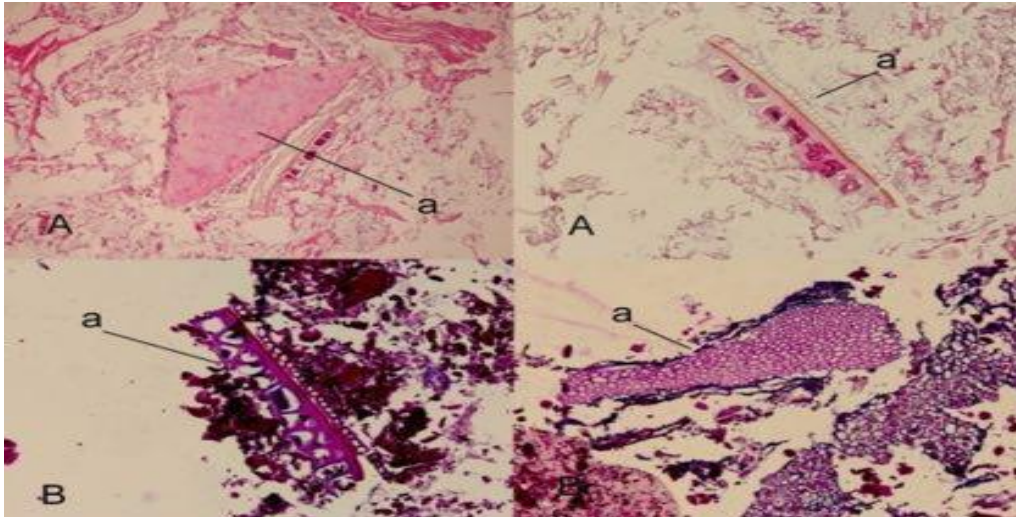
شکل ۶: مقطع بافت چربی. a: سلول چربی، هماتوکسیلین و ائوزین، X1۰۰



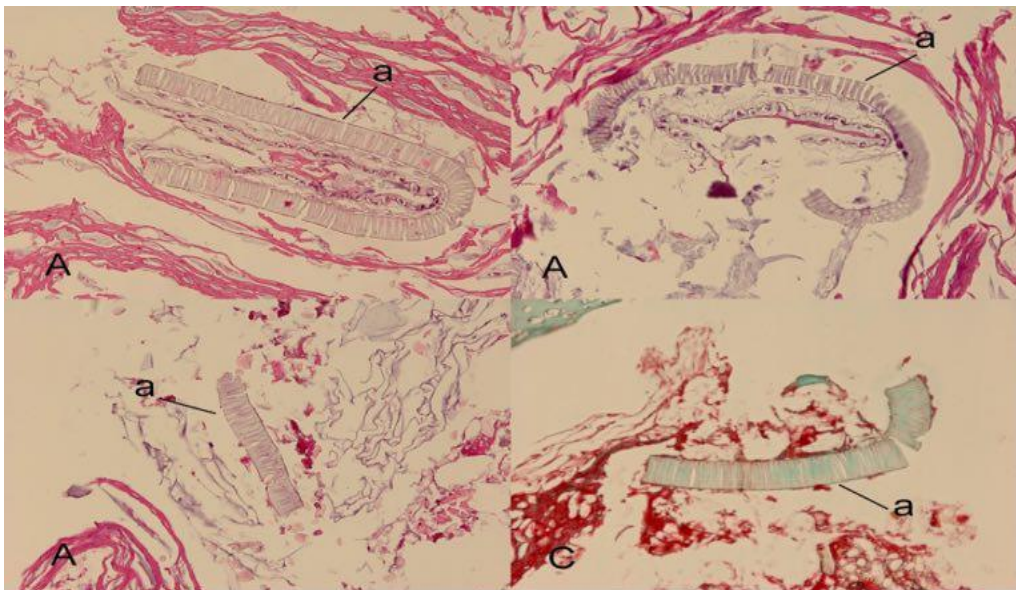
شکل ۷: مقطع عرضی رگ خونی. A: هماتوکسیلین وائوزین، B: پاس - آلسین بلو، a: لایه داخلی، b: لایه میانی، c: لایه خارجی، x: شریان ماهیچه ای، xx: ورید ماهیچه ای، X1000



شکل ۸: مقطع طولی عصب. A: هماتوکسیلین وائوزین، B: پاس - آلسین بلو، C: ماسون تری کروم، D: ورهوف-ون گیسون، a: آکسون، X1000



شکل ۹: مقطع عرضی بافت گیاهی. هماتوکسیلین وائوزین، B: پاس-آلسین بلو، a: سلول گیاهی، X100



شکل ۱۰: مقطع عرضی بافت سویا. A: هماتوکسیلین وائوزین، C: ماسون تری کروم، a: بخش پالساد، X100

بحث و نتیجه‌گیری

درحال حاضر استاندارد ملی (۶۱۰۳) با عنوان "شناسایی بافت‌های حیوانی غیرمجاز به روش بافت‌شناسی" برای تمام فرآورده‌های غذایی درکشور به‌کارگرفته می‌شود اما در مراحل انجام این تست تنها از

رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین وائوزین استفاده می‌گردد که استفاده از این رنگ‌آمیزی در بعضی از موارد ازکارایی بالا و مطمئن در تشخیص برخوردار نمی‌باشد. مطالعات نشان داده علی‌رغم اینکه فاکتورهای لازم جهت تهیه مقاطع میکروسکوپی بافت‌های حیوانی در

(Horn, 1984). محققین دیگر در نمونه‌های کالباس حضور غدد بزاقی را گزارش نمودند (Rokni et al., 1997). در تحقیق دیگر بر روی نمونه‌های کالباس در کرمانشاه توانستند غدد بزاقی، طحال، ریه، غدد لوله‌گوارشی، مری و غده پستان را شناسایی نمایند (Shariati far et al., 2011). خانیکی و همکاران (Khaniki et al., 2013) در نمونه‌های همبرگر نیز بافت‌های غده پستان، غدد لنفاوی و سنگدان را مشاهده کردند (Khaniki et al., 2013).

-غضروف‌های مفصلی

بافت‌های غضروفی به علت ساختار متراکم در طی فرآیند تولید همبرگر کمتر متحمل تغییرات مورفولوژیک شده و در مقاطع تهیه شده براحتی قابل تشخیص می‌باشند. غضروف‌های مفصلی مشاهده شده از نوع هیالین و فاقد پری‌کندریوم می‌باشند. کندروسیت‌ها در این غضروف‌ها به صورت منفرد و یا گروه‌های هم‌اصل در داخل لاکوناها یا آشیانه سلولی مشاهده می‌شوند. ماده‌ی زمینه غضروفی در رنگ‌آمیزی‌های اختصاصی به اشکال متفاوتی مشاهده گردیدند به طوری که در رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین وائوزین به رنگ آبی تا بنفش رنگ، در رنگ‌آمیزی ماسون‌تری کروم به رنگ سبز، در رنگ‌آمیزی پاس-آلسین بلو به رنگ بنفش و در رنگ‌آمیزی ورهوف-ون‌گیسون به رنگ قرمز تیره مشاهده شدند. با توجه به اینکه غضروف، بافت همبند و عضلات در رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین وائوزین صورتی رنگ مشاهده می‌شوند و امکان تفریق آن‌ها سخت می‌باشد، انجام رنگ‌آمیزی‌های اختصاصی کمک مهمی به تشخیص و تفریق غضروف می‌نماید. وجود این ساختارهای غضروف هیالین و عدم حضور و مشاهده

همبرگر وجود ندارد بافت‌های حیوانی در زیر میکروسکوپ قابل تشخیص بوده و این گفته که با انجام روش‌های بافتی نمی‌توان موارد غیر مجاز را تشخیص داد کاملاً رد می‌شود. بافت‌های مشاهده شده در این تحقیق شامل بافت‌های غیرمجاز (غده بزاقی) و بافت‌های مجاز (استخوان، غضروف مفصلی، بافت همبندی، عضلات اسکلتی، چربی، عروق خونی، اعصاب، بافت‌های گیاهی و سایر مواد افزودنی) بودند که به تفکیک در ادامه آن‌ها را مورد بررسی قرار می‌دهیم.

غدد بزاقی

نتایج بدست آمده نشان داد که در تعدادی از نمونه‌ها از عضلات ناحیه سر استفاده شده است به همین خاطر غدد بزاقی همراه با عضلات سردر نمونه‌های همبرگر مشاهده گردید در نمونه‌های مورد مطالعه بافت غدد بزاقی از نوع سروزی (که احتمالاً غدد بزاقی بنا گوشه در گاواست) مشاهده شد در این نمونه‌ها واحدهای ترشچی به صورت آسینی و مجاری غدد با اپیتلیومی از نوع مکعبی ساده تا مطبق به طور واضح قابل تشخیص بودند. در رنگ‌آمیزی‌های مختلف به خصوص پاس - آلسین بلو به علت رنگ‌پذیری بالای ترشحات داخل واحدهای سروزی قابل تشخیص بودند و رنگ‌پذیری این ساختارها کاملاً متفاوت از دیگر بافت‌ها به خصوص بافت‌های چربی و یا ساختارهای حبابی مانند ریه می‌باشند که در این بافت‌ها در رنگ‌آمیزی پاس-آلسین بلو هیچ رنگی به وسیله بافت جذب نشده و رنگ‌پذیری بسیار کم می‌باشد (شکل ۱). در مطالعه‌ای بر روی ۲۱۲ نمونه کالباس در ۸۰ درصد نمونه‌ها مخاط دستگاه گوارش مربوط به سر، زبان و معده مشاهده شد

پری‌کندریوم نشان دهنده حضور بافت غضروف مفصلی می‌باشد که درحین مراحل جدا سازی گوشت از لاشه همراه با گوشت جدا شده‌اند باید دقت کرد که در صورت مشاهده لایه پری‌کندریوم در بخش خارجی غضروف استفاده از بافت‌های غیر مجاز مانند نای، ریه و یا گوش تایید می‌گردد که در نمونه‌های مورد مطالعه هیچگونه غضروفی که حاوی پری‌کندریوم باشد مشاهده نشد. مشابه نتایج بدست آمده محققین دیگر توانستند در نمونه‌های همبرگر و هات داگ حضور غضروف شفاف را در این فرآورده‌ها گزارش کنند (Praysone *et al.*, 2008; Praysone *et al.*, 2000; Sayrafi *et al.*, 2018; Moghtaderi *et al.*, 2019).

-بافت استخوان

بافت استخوان نیز در تعدادی از نمونه‌های همبرگر مورد مطالعه مشاهده شد. این بافت به صورت قطعات ریز و درشت مشاهده گردید. سلول‌های استئوسیت و لاکونا‌های سلولی کاملاً مشخص بودند. در بعضی از نمونه‌های استخوانی آرایش تیغه‌های استخوانی به شکل سیستم هاورس نیز قابل مشاهده بود. بافت استخوان در رنگ‌آمیزی‌های اختصاصی رنگ‌پذیری متفاوتی داشتند که در تشخیص بافت استخوانی از بافت‌های دیگر مانند عضله و تاندون و غضروف کمک زیادی می‌کرد. بافت استخوان در رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین و انوزین صورتی تا قرمز رنگ، در رنگ‌آمیزی ماسون‌تری کروم سبز رنگ، در رنگ‌آمیزی پاس-آلسین بلو صورتی کم‌رنگ و در رنگ‌آمیزی ورهوف-ون‌گیسون نارنجی مایل به قرمز رنگ مشاهده شد (شکل ۳). تفاوت رنگی در رنگ‌آمیزی‌های مختلف مربوط به کلاژن موجود در ماتریکس استخوانی است که کمک زیادی به تشخیص بافت استخوانی در نمونه‌های همبرگر می‌کند. در مورد

حضور وسیع بافت استخوانی در همبرگر اگر نگوییم که این بافت به طور عمدی اضافه شده است قطعاً می‌توان نتیجه‌گیری نمود که علت آن بی‌دقتی در جدا نمودن گوشت از استخوان می‌باشد که نتیجه آن حضور قطعات ریز و درشت این بافت به مقدار چشم‌گیر در کلیه‌ی نمونه‌ها است. لذا مسئولین کنترل و نظارت بر تولید این فرآورده‌ها بایستی راه‌کار لازم را برای برطرف کردن این نقص به کار بندند. محققین بسیاری نیز مشابه تحقیق انجام شده استفاده از استخوان را در نمونه‌های فرآورده‌های غذایی منجمده کالباس و همبرگر گزارش نموده‌اند (Sayrafi *et al.*, 2018; Moghtaderi *et al.*, 2019).

-عضله اسکلتی

در خصوص بافت‌های حیوانی اصلی در همبرگر بخصوص عضله اسکلتی مشخص گردید که بافت عضله اسکلتی به راحتی قابل تشخیص بوده و در غالب موارد خصوصیات بافتی خود را حفظ کرده است به طوری که حتی خطوط عرضی اکتین و میوزین در فیبرها عضلانی نیز در اسلاید های بافتی قابل مشاهده می‌باشند. استفاده از رنگ‌آمیزی‌های اختصاصی ون‌گیسون و ماسون تری کروم در تشخیص و تفریق عضلات از بافت‌های همبندی کمک بزرگی می‌باشد بطوریکه در مطالعات انجام شده در رنگ‌آمیزی ون-گیسون عضلات زرد رنگ و کلاژن قرمز رنگ شده و در رنگ‌آمیزی ماسون‌تری کروم کلاژن سبز رنگ و عضلات قرمز تیره شدند و با این نوع رنگ پذیری امکان تفکیک عضلات از بافت‌های همبندی با سهولت میسر می‌باشد. شایان ذکر است که در ساختارهای عضله مورد استفاده در هیچ یک از نمونه‌های همبرگر مورد مطالعه، میکروکیست‌های سارکوسیست مشاهده نگردید. این

کنند (Hultsch and Kruger, 1977). محققین همچنین با انجام رنگ‌آمیزی ماسون‌تری کروم توانستند بافت‌های همبندی و عضلات به کار رفته در کالباس را تفریق کنند (Rokni et al., 1997).

-بافت چربی

بافت چربی اغلب طی مراحل پاساژ بافتی، توسط محلول گزیلول حل می‌شود. لذا در مقاطع میکروسکوپی بافت‌شناسی، بافت چربی به صورت توده‌های کروی یا چند وجهی سفید رنگ به نظر می‌رسد و هسته کوچک آن در گوشه‌ای از سلول به صورت بنفش رنگ می‌گیرد. در مقاطع همبرگر هم وجود توده‌های سفید غالباً نشانگر حضور بافت چربی فراوان می‌باشد. لازم به ذکر است که فضاهای خالی یا هوای موجود در نمونه‌های همبرگر راناباید با حضور بافت چربی اشتباه گرفت. البته برای بررسی دقیق‌تر آن نیاز به روش‌های مخصوص آماده‌سازی بافت چربی و رنگ‌آمیزی‌های اختصاصی بافت چربی می‌باشد. متأسفانه روش رنگ‌آمیزی خاصی برای تفریق چربی احشایی در طیور و نشخوارکنندگان با چربی طبیعی موجود در بین عضلات وجود ندارد. محققین دیگر با انجام رنگ‌آمیزی اوایل رد و فرانکل توانستند استفاده بیش از حد از چربی در نمونه‌های کالباس را نشان دهند (Caserio et al., 1976).

-عروق خونی

عروق خونی مختلف شامل: سرخرگ الاستیک، سرخرگ عضلانی، شریانچه، سیاهرگ عضلانی و ونول در این مطالعه تشخیص داده شد. فراوان‌ترین آن‌ها سرخرگ‌های عضلانی بودند که طبقات مختلف دیواره عروق خونی شامل لایه داخلی یا انتیما مشتمل بر

نکته می‌تواند بیانگر عدم استفاده از لاشه‌های انگلی در نمونه‌های همبرگر باشد. در تحقیق بر روی نمونه‌های همبرگر در ۲۵ درصد موارد حضور میکروکیست سارکوسیست را در بین فیبرهای عضله اسکلتی گزارش کردند (Praysone et al., 2008). با توجه به شکل خاص عضلات و تراکم زیاد بافت همبند بین فیبرهای عضلانی در سنگدان طیور به عنوان یک بافت غیرمجاز، رنگ‌آمیزی ون‌گیسون و ماسون‌تری کروم کمک بزرگی در تشخیص این ساختار می‌کند.

-بافت‌های همبندی

در نمونه‌های همبرگر مورد مطالعه بافت‌های همبندی متراکم منظم و نامنظم مشاهده گردید. این بافت‌ها که عمدتاً از دستجات کلاژن ساخته شده‌اند به صورت ساختارهای مجزا در ابعاد مختلف و نیز در ارتباط با ساختارهای بافتی دیگر نظیر استخوان، عروق خونی و عضلات اسکلتی مشاهده شدند، با توجه به رنگ‌آمیزی‌های اختصاصی انجام شده مشاهده گردید که با وجودی که بافت‌های همبندی شباهت زیادی به عضلات (صاف یا مخطط) دارند انجام رنگ‌آمیزی‌های ون‌گیسون و ماسون‌تری کروم کمک زیادی در تفریق و تشخیص این دو بافت می‌باشد به طوری که در رنگ‌آمیزی ون‌گیسون رشته‌های کلاژن صورتی رنگ و عضلات قرمز رنگ و در رنگ‌آمیزی ماسون‌تری کروم رشته‌های کلاژن به رنگ سبز و عضله به رنگ قرمز مشاهده می‌شدند و امکان تفکیک بهتر رشته‌های همبندی (کلاژن) و عضلات را فراهم می‌آورند. محققین با مطالعه بر روی نمونه‌های کالباس با رنگ‌آمیزی اورنج جی و آلانین بلو توانسته‌اند رشته‌های کلاژن را به خوبی تفریق و میزان آن را در نمونه‌های کالباس مطالعه

کم‌رنگ، در رنگ‌آمیزی ورهوف - ون‌گیسون زرد رنگ با حاشیه صورتی، در رنگ‌آمیزی پاس - آلسین‌بلو آبی رنگ با حاشیه بنفش و در رنگ‌آمیزی ماسون‌تری کروم سبز کم‌رنگ با حاشیه سبز پررنگ مشاهده شد.

-بافت‌های گیاهی

بافت‌های گیاهی در نمونه‌های همبرگر به صورت دانه‌های قرمز، زرد، صورتی، بنفش، آبی و تیره رنگ و اشکال کروی بیضوی، فنری شکل مشاهده گردید. بافت‌های گیاهی دارای سلول‌هایی است که دیواره این سلول‌ها کاملاً مشخص بوده و از این لحاظ از سلول‌های جانوری قابل تفریق هستند. هسته سلول‌های گیاهی نیز غالباً گرد و کاملاً مشخص می‌باشند. در بعضی موارد نمونه‌های گیاهی شباهت زیادی به بافت غضروف دارند.

سویا یکی از بافت‌های گیاهی است که غالباً در محصولات همبرگر استفاده می‌شود. این بافت به دو شکل اکستروdat سیلندریکال (Cylindrical extrudate) (توده‌های بی شکل با فضاهای خالی) به همراه سلول‌های پالیساد (Palisade) سویا (به صورت نردبانی) در نمونه‌های همبرگر مشاهده شد. رنگ پذیری سویا در رنگ‌آمیزی‌های اختصاصی با عمومی بسیار متفاوت بوده و همین امر کمک زیادی به تشخیص این بافت در نمونه‌های همبرگر می‌کند. بخش اکستروdat سویا در رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین وائوزین صورتی رنگ، در رنگ‌آمیزی ورهوف - ون‌گیسون سیاه، در رنگ‌آمیزی پاس - آلسین‌بلو بنفش و در رنگ‌آمیزی ماسون‌تری کروم قرمز تیره مشاهده شد. محققین به وسیله تکنیک الیزا توانستند میزان دناتورده شدن پروتئین سویا را بر اثر حرارت در نمونه‌های کالباس

سلول‌های اندوتلیال و پرده الاستیک داخلی، لایه میانی یا مدیا متشکل از لایه‌های متعدد عضلات صاف با آرایش حلقوی و لایه خارجی یا ادوانتیس متشکل از بافت همبندی در آن کاملاً مشخص بودند. شایان ذکر است که عروق خونی به طور مشخص ساختار بافتی خود را در همبرگر حفظ می‌کنند و به راحتی قابل تشخیص و تفریق از ساختارهای دیگر بافتی می‌باشند. در رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین وائوزین سرخرگ‌های عضلانی به رنگ صورتی و رشته‌های الاستیک در آن‌ها به رنگ صورتی کم‌رنگ و موج مشاهده گردید. در رنگ‌آمیزی ورهوف - ون‌گیسون این عروق به رنگ زرد رنگ و رشته‌های الاستیک به رنگ سیاه مشاهده شد و در رنگ‌آمیزی ماسون‌تری کروم لایه میانی قرمز رنگ و لایه ادوانتیس سبز رنگ مشاهده شد. استفاده از عروق الاستیک مانند آئورت یک بافت غیر مجاز تلقی می‌شود که به راحتی با رنگ‌آمیزی ورهوف قابل شناسایی است. در مطالعات دیگر نیز به کارگیری از عروق در نمونه‌های کالباس گزارش گردید (Shariati far et al., 2011; Prayson, 2008).

-اعصاب محیطی

اعصاب محیطی به اشکال عرضی و طولی در نمونه‌های همبرگر مورد مطالعه مشاهده شدند. با وجود اینکه امکان حضور فیبرهای عصبی در مابین عضلات وجود دارد اما استفاده از اعصاب ضخیم مانند عصب سیاتیک به تنهایی می‌تواند به صورت بافت غیرمجاز محسوب گردد. باید دقت شود که در صورتی که در اطراف عصب فیبرهای عضله مشخص نبود امکان افزودن عصب به مواد اولیه وجود دارد، که در این حال استفاده از این ساختار غیرمجاز محسوب می‌شود. مقطع عصب در رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین وائوزین صورتی

می‌شود که بر اساس نوع بافت مورد نظر متفاوت می‌باشد.

Mifek and Glawischnig,) قرار دهند (1989; Khaniki and Rokni, 2006).

-بافت پوست

پوست به عنوان یک بافت غیر مجاز در هیچ یک از نمونه‌ها همبرگر مورد مطالعه مشاهده نگردید اما در مطالعات دیگر بر روی کالباس پخته شده نیز حضور بافت پوست را تایید کرد (Sasu, 1984).

نتایج تحقیق نشان داد که در مورد نمونه‌های همبرگر استفاده از رنگ‌آمیزی عمومی همتوکسیلین وائوزین می‌تواند در تشخیص بافت‌های غیر مجاز بکار گرفته شود اما در مواردی که با اعتراض تولیدکننده‌ها روبرو بوده و نیاز به تشخیص‌های دقیق‌تر و مطمئن‌تری داریم استفاده از رنگ‌آمیزی‌های اختصاصی پیشنهاد

سپاسگزاری

بدینوسیله از جناب آقای قاسم پور ادیبی کارشناس محترم آزمایشگاه بافت‌شناسی دانشکده دامپزشکی دانشگاه فردوسی مشهد که در انجام بخش عملی این تحقیق همکاری نمودند کمال تشکر را داریم.

تعارض منافع

نویسندگان هیچگونه تعارض منافی برای اعلام ندارند.

منابع

- Caserio, G., Patano, C., Gennari, M., *et al.* (1976) Application of histological methods to the evaluation of the Cutaneous mucosa in meat products. *Fleischwirtsch*, 64(11): 1321-1322.
- Hultsch, M., and kruger, L.(1977) Histometric testing of high quality scalded sausage to determine a threshold for collagen volume. *Monatshefte für Veterinärmedizin*, 32 (6): 223-226.
- Institute of Standards and Industrial Research of Iran (ISIRI) (2018) Identification of unauthorized animal tissues by histological method. 2nd revision, ISIRI No: 6103. [In Persian].
- Khaniki, J., Rokni, N. (2006) Histological study of unpermitted tissues in heated meat products by using of Masson's trichrome stain. *pajouhesh & Sazandegi*. 73: 96-102. [In Persian]
- Khaniki, J., Rokni, N. (2004) Histological detection of soya in freezing raw hamburger of Iran. *pajouhesh & Sazandegi*. 62(1): 71-75. [In Persian]
- Khaniki, J., Abbasy Fasarani, M., Hosseini, H., Adibmoradi, M., Eskandari, S.(2013) Histological study of industrial hamburgers containing 30 and 60 percent meat for presence of unpermitted edible tissues and correlation of this factor to meat connective tissue chemical indices. *Iranian Journal of Nutrition Sciences & Food Technology*. 7(5): 311-318. [In Persian]
- Mifek, K., Glawischnig, M. (1989) Detection of heat denatured soy protein in meat products by ELISA. *Ernaehrung*, 13 (12): 763-766.
- Moghtaderi, A., Raji, A.R., Khanzadi, S., Nabipour, A. (2019) Application of histological method for detection of unauthorized tissues in meat sausage. *Veterinary Research Forum*, 10 (4), 357 -360.
- Payamei, A., Movassagh, M.H., Delashoub, M. (2021) Survey of unauthorized tissues in meat products by histological method in Tabriz and Khoy. *Food Hygiene* 42(2): 1-10.
- Prayson BE, McMahon, J.T., Prayson, R.A.(2008) Fast food hamburgers: what are we really eating? *Annals of Diagnostic Pathology*, 12(6): 406-9.

-
- Prayson, B.E., McMahon, J.T., Prayson, R.A. (2000) Applying morphologic techniques to evaluate hotdogs: what is in the hotdogs we eat? *Annals of Diagnostic Pathology*, 12(2): 98-102.
 - Pousty, I. Comparison Histology. Tehran University: Tehran University; 1989. 333-334. [In Persian]
 - Rokni, N., Rezaian, M., Dayani, Dardashti, A. (1997) Histological & histometrical study of different heated sausages. *Journal of Veterinary Research, university of Tehran*. 52(1) 75-62. [In Persian]
 - Sasu, M.(1984) Composition of cooked Mettwurst in the Detmold region. *Fleischwirtschaft*, 64 (2): 164, 166-168.
 - Sayrafi, R., Shalazar Jalali, A., Karimi, A., Shiravani, Z. (2018) Qualitative and Quantitative analysis of Unauthorized Tissues in Heated Meat Products (Sausage) with Histological Method. *Iranian of Food sciences and Technology research journal*, 78: (15). 255-262. [In Persian]
 - Shariati far, N., Sadeghi, A., Khazaei, M., Almasi, A., Bohlooli Oskoe, S., Thyvlyan, R.(2011) Recognition of Illegal Tissues in the Meat Products from Kermanshah Supply Centers during the years 2009-2010. *Ofogh e Danesh; Journal of Gonabad University of Medical Sciences*. 17(1):311-318. [In Persian]